

SZEROLÓGIAI ÉS MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI VIZSGÁLATOK LEHETŐSÉGEI ÉS KORLÁLATI A HASZONÁLLATPRAXISBAN

Süli Tamás

Vezető kutató

Charles River Laboratories Hungary Ltd.


charles river

- Születtem Újverbászon, a Vajdaságban
- Újvidéki Egyetem (alap és tudományos fokozat)

- 2008-2013 **Baromfi ágazat** (állatorvos/telepvezető)
- 2013-2021 (**Prophyl Kft., Mohács** (megbízásos K+F, haszonállat)
 - Állatorvos/ K+F Tudományos Igazgató Helyettes
 - Diagnosztikai laboratórium vezető (Dr. Marek József ÁEÜ Labor)

- 2021-2022 Labiana Life Sciences S.A. (Szerbia) **Oltóanyag K+F**
- 2022 szept - **Charles River Laboratories Hungary**

- 1. BEVEZETÉS**
- 2. MÓDSZERTAN** (leggyakrabban használt szerológiai/ molekuláris biológiai módszerek a haszonállatpraxisban)
- 3. MINTASZÁM, MINTAVÉTEL** (korszerű mintavételi eljárások, mintaszámok a vizsgálat céljának függvényében)
- 4. DIAGNOSZTIKAI ELJÁRÁSOK A GYAKORLATBAN**

DIAGNOSZTIKAI KÉRDÉS

Milyen kérdésre szeretnénk választ kapni?

- **Egyedi klinikai megbetegedés(ek) diagnosztizálása**
- **Klinikai megbetegedések diagnosztizálása populáció szinten**
- **Kórokozó kimutatása** egyed vagy populáció szinten
- **Előzetes kitettség detektálása** egyedben vagy populációban
- **Prevalencia** meghatározás (egy konkrét populációban, csoportban)
- **Incidencia** meghatározás (egy adott populációban adott időtartam alatt előforduló új esetek gyakorisága)
- **Kórokozó jelenlétének monitorozása**
- **Beavatkozás hatékonyságának ellenőrzése** (vakcina megeredés, járványvédelmi intézkedés stb.)

DIAGNOSZTIKAI KÉRDÉS

Miért fontos a megfelelő diagnosztika?

- A telepített állatok **egyre értékesebbek**
- **Alacsony árreak** → magas technikai teljesítmény szükségessége
- **Egyre nagyobb telepek/istállók**
- **Az állatok gyorsabban növekednek** (broiler, húzósertés) → kevesebb idő marad a beavatkozásra
- A termelő állatok **termelésben töltött ideje egyre növekszik** (pl. tojóhibridek) → a vakcinázási programoknak hosszabb ideig kell „működni”
- **A fogyasztók igényei is növekednek** → antibiotikum-mentes állattartás, növekedést serkentők tilalma, állatjólét ...

DIAGNOSZTIKAI MÓDSZEREK

A) IMMUNODIAGNOSZTIKAI MÓDSZEREK (Ag-At) kapcsolódásán alapuló módszerek

1) A kapcsolódást követő másodlagos reakciókon alapuló módszerek (Az Ag-At reakciót egy másodlagos reakció követi, amely lehetővé teszi az elsődleges reakció leolvasását → immunkomplex kicsapódás, VVS agglutináció ...)

- PRECIPITÁCIÓ
- **AGGLUTINÁCIÓ**
- KOMPLEMENT KÖTÉS

DIAGNOSZTIKAI MÓDSZEREK

2) A kapcsolódást elsődleges reakción alapuló módszerek (Ahhoz, hogy mérni tudjuk az Ag-At reakciót, a reakcióban résztvevők közül az egyiknek kémiai úton jelölve kell lenni (radioizotóp, fluoreszcens festék, enzim stb.)

- RADIOIMMUNOASSAY (RIA)
- IMMUNOFLUORESCENCIA
- **ENZIMHEZ KÖTÖTT IMMUNSZORBENS ELJÁRÁS (ELISA)**
- WESTERN BLOT
- IMMUNHISZTOKÉMIA
- IMMUNOHROMATOGRÁFIA (Lateral Flow Assay)
- ÁRAMLÁSI CITOMETRIA

B) NEUTRALIZÁCIÓS VIZSGÁLATOK

C) MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

AGGLUTINÁCIÓ

- **Ellenanyagok bivalens felépítésűek** → különböző sejtfelszíni antigénekkal (pl. a baktériumok vagy vörösvérsejtek) reagálva **térbeli hálózatot alakítanak** ki így előidézve ezen sejtek **öszecsapzódását, agglutinációját.**
- Az elv különböző típusú vizsgálatokban alkalmazható, így megkülönböztetünk **tárgylemez agglutinációt, cső-agglutinációt, mikrolemezen végzett agglutinációt.**
- A vizsgálat lehet **kvalitatív, illetve kvantitatív.**

MIKROAGGLUTINÁCIÓS TESZT - MAT (kvantitatív)

- pl. a leptospirosis szerológiai vizsgálata sertésekben.
- A próba a *Leptospira* specifikus ellenanyagok, illetve az élő *Leptospira* sp. baktériumok közötti reakción alapul.
- A vizsgált **pozitív savó és a baktériumtenyészet reakciója agglutinációban nyilvánul meg**, ami utána **mikroszkóp** alatt vizsgálható.
- A próba **kvantitatív**, az eredmények **titerben** vannak kifejezve. Az ellenanyag titere az a legmagasabb hígítási lépték, amely a baktériumok 50%-át agglutinálta a negatív kontrollhoz képest.

MIKROAGGLUTINÁCIÓS TESZT - MAT (kvalitatív)

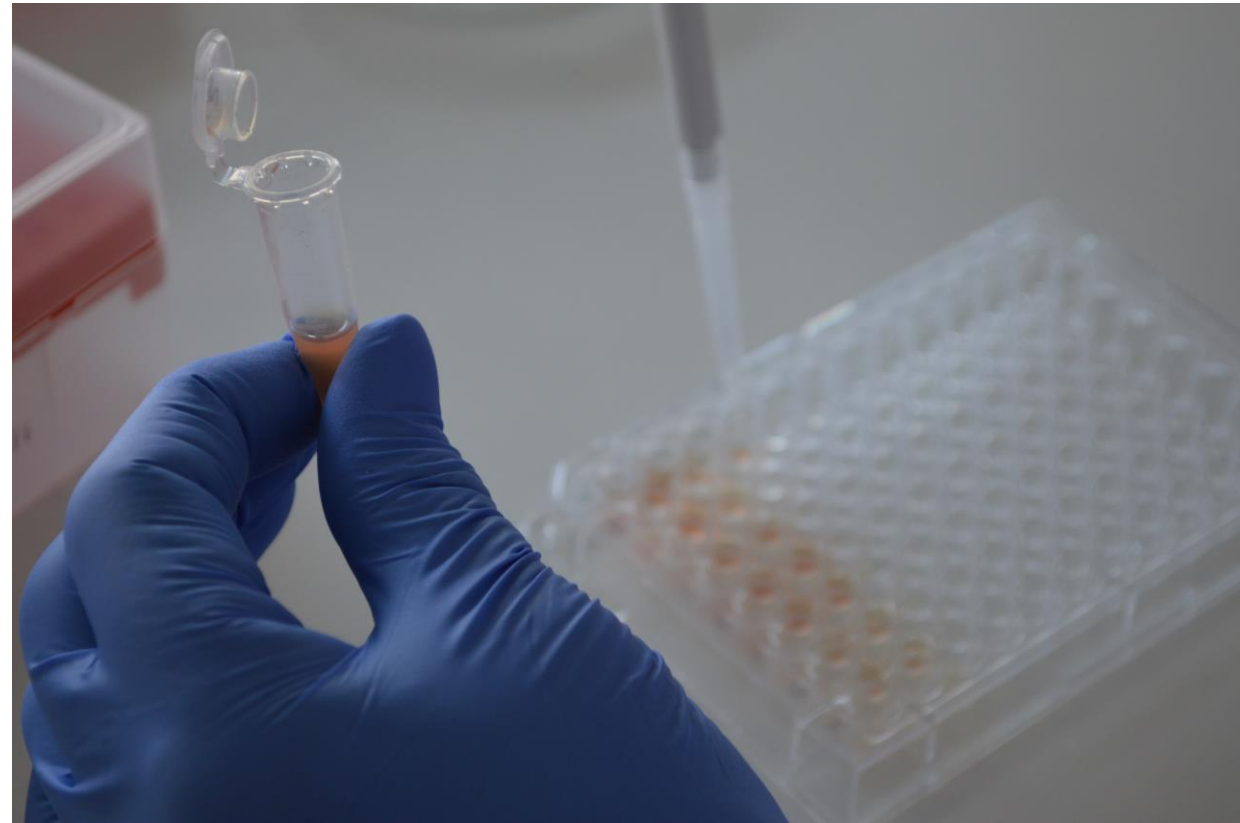
(+) meglehetősen érzékeny; olcsó;
gyors;

a magas titer (1:1024) **szignifikáns korrelációt mutat a kórokozó izolálhatóságával** megbetegedés esetén.

(-) *Leptospira* **tenyészet fenntartása;**

Nem zárható ki az operátor **szubjektivitása;**

Savó **egyszeri vizsgálatának alacsony a diagnosztikai értéke, savópár vizsgálata ajánlott.**



HEMAGGLUTINÁCIÓ GÁTLÁS – HAG (kvalitatív)

- Egyes **vírusok külső fehérjeburkának** egyik komponense egyes állatfajok **vörösvérsejtjeivel összekapcsolódik, térbeli hálózatot alakít ki és ezáltal megakadályozza a vérsejtek kiülepedését.**
- A hemagglutináció jelenségét ki lehet használni a **hemagglutináló vírusok (NDV, IB, EDS, SIV, PPV...)** ellen termelt ellenanyagok **mennyiségének meghatározására** egy adott vérsavó mintában.
- A hemagglutináció gátlás reakcióban a **vérsavót hígítjuk a mikrolemezen,** majd **ismert titerű vírust (antigént) adagolunk** a mikrolemez mintahelyeibe. Hagyjuk, hogy az **ellenanyag-antigén kötődés** létrejöjjön, majd **vörösvérsejt szuszpenziót adunk** a reakcióhoz.

HEMAGGLUTINÁCIÓ GÁTLÁS – HAG (kvalitatív)

- Amennyiben a szervezetben természetes fertőzés vagy vakcinázás következtében **ellenanyagok termelődtek**, a vírus felületén levő **hemagglutinin** a specifikus **ellenanyaggal** reagálva **lekötődik**, a **hemagglutináció nem játszódik le**.
 - A vizsgált savó hemagglutináció-gátló **titerét az a legnagyobb savó hígítás adja, ahol teljes gátlás látható**.
- (+)** ↑Érzékenység (0,005 µg/ml); Olcsó; A szerológiai válasz monitorálható akár (telep, epizootológia egység) specifikus antigénekkal is.
- (-)** Operátor **szubjektivitása nem zárható ki**; ↓**Robusztusság**

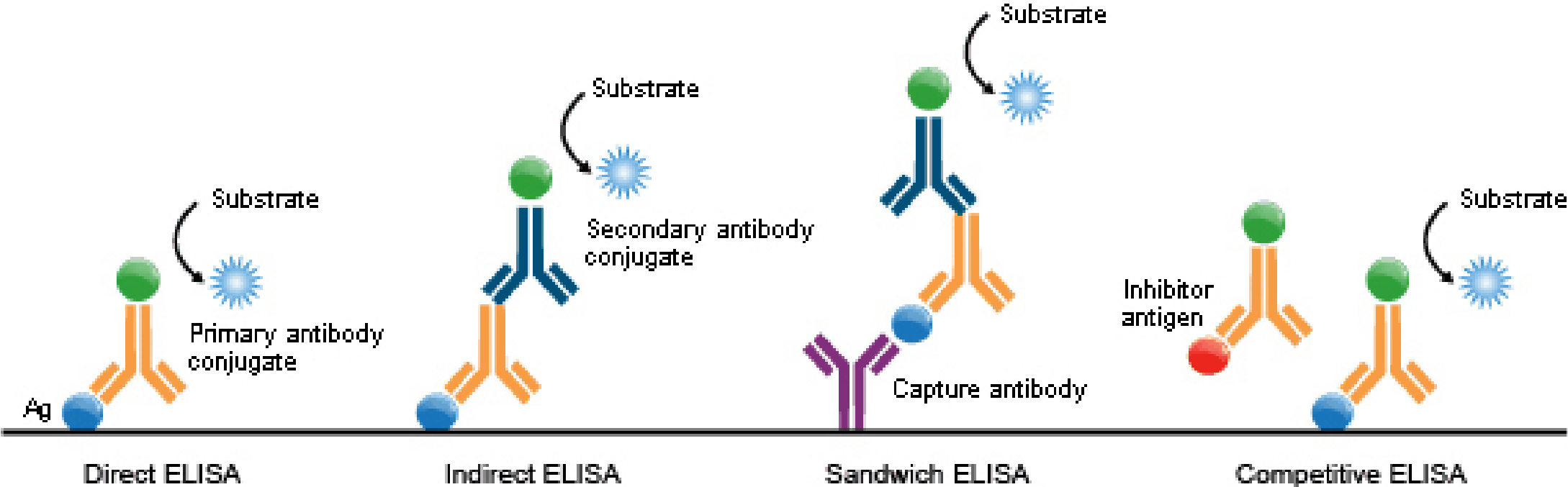
ENZIMHEZ KÖTÖTT IMMUNSZORBENS ELJÁRÁS (ELISA)

(Kvalitatív, kvantitatív)

- **Különböző enzimek** (alkalikus foszfatáz, torma peroxidáz) **köthetőek** **ellenanyagokhoz** úgy, hogy ne sérüljön az ellenanyag **specificitása**, illetve az **enzim aktivitása sem**.
- Az **enzim a saját szubsztrátjával könnyen detektálható**, az **Ag-At reakció vizualizálható**, illetve mérhető.
- Az eljárás használható **ellenanyagok és antigének** kimutatására egyaránt.
- Leggyakrabban használt teszt formátumok: a sandwich ELISA, indirekt ELISA és a kompetitív (blokkoló) ELISA.

ENZIMHEZ KÖTÖTT IMMUNSZORBENS ELJÁRÁS (ELISA)

(Kvalitatív, kvantitatív)



ENZIMHEZ KÖTÖTT IMMUNSZORBENS ELJÁRÁS (ELISA)

(Kvalitatív, kvantitatív)

(+) Magas áteresztőképesség;

Gyorsaság;

Automatizált (részben vagy teljesen);

Magas szenzitivitás és specificitás;

Egyes tesztek alkalmasak a **vakcina immunitás** megkülönböztetésére a fertőzés okozta immunitástól; **IgM/IgG immunválasz** megkülönböztetése.

(-) Anyag és eszközigény



ENZIMHEZ KÖTÖTT IMMUNSZORBENS ELJÁRÁS (ELISA)

(Kvalitatív, kvantitatív)

!!!

- A mérési eredmény mindig OD érték, önmagában nincs jelentősége csak ha adatot származtatunk belőle.
- S/P érték → indirekt ELISA esetén (a minta mért OD értéke a pozitív kontrolhoz viszonyítva) → **nem tekinthető titernek**, mivel a titer annak a legmagasabb hígítási léptéknek a reciprok értéke, amely immunológiai reakciót produkál (nem csinálunk hígítási sort).
- Gátlási % → kompetitív ELISA esetében (a minta mért OD értéke a negatív kontrolhoz viszonyítva) → **nem tekinthető titernek**
- A számított érték csak akkor korrelálható titerrel, ha kettő között lineáris összefüggés van!

NEUTRALIZÁCIÓS VIZSGÁLATOK

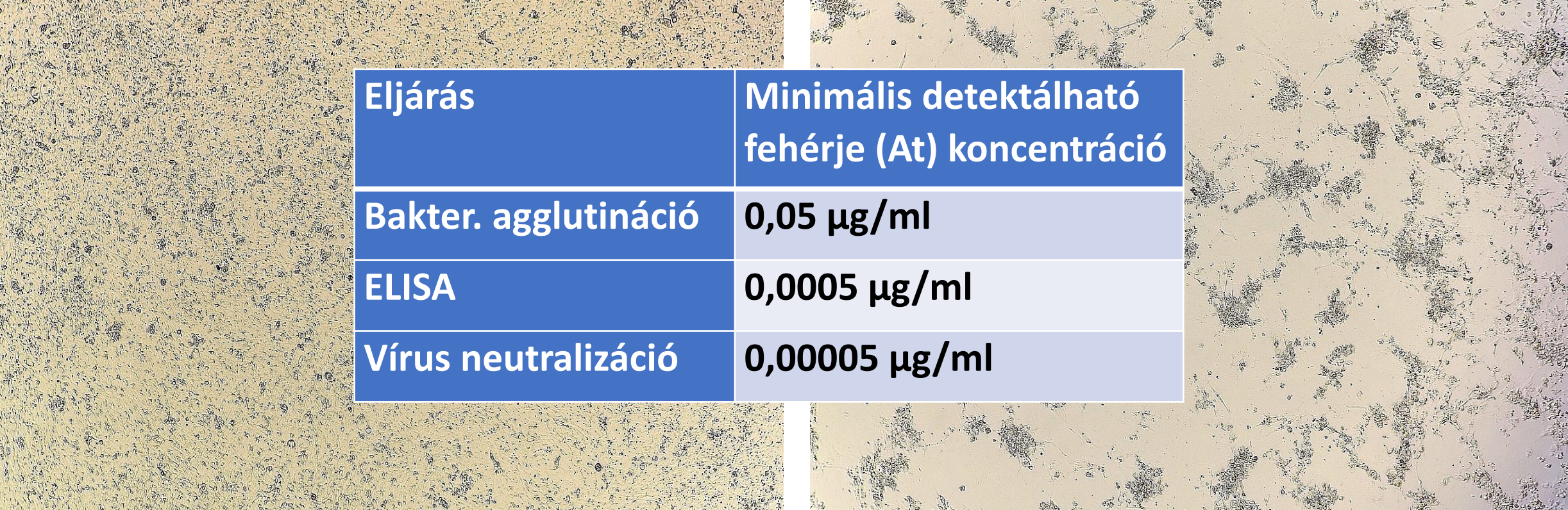
- Felmérhető az ellenanyag azon képessége, hogy neutralizálja az antigén biológiai aktivitását *in vitro*.
- Lehetővé teszi az ismeretlen vírusok azonosítását, illetve a specifikus ellenanyagszint meghatározását.
- Élő rendszerekben végzett vizsgálatok!



NEUTRALIZÁCIÓS VIZSGÁLATOK

(+) Az ellenanyagszínt kiválóan **korrelálható a védettséggel**; Magas specificitás és **nagyon magas érzékenység**;

(-) ↑Költség; Technikailag igényes; **Képzett operátor!!!**



| Eljárás | Minimális detektálható fehérje (At) koncentráció |
|----------------------|--|
| Bakter. agglutináció | 0,05 µg/ml |
| ELISA | 0,0005 µg/ml |
| Vírus neutralizáció | 0,00005 µg/ml |

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

Mikroorganizmus/kórokozó **örökítő anyagát** mutatják ki különböző **biológiai vagy környezeti mintából**.

- 1) **Örökítő anyag (DNS, RNS) kivonása a mintából** → mechanikai vagy vegyi úton
- 2) **Konvencionális PCR** → kvalitatív
- 3) **Real-time PCR (qPCR)** → kvalitatív vagy kvantitatív
- 4) **Szekvenálás** → a mikroorganizmus pontos filogenetikai meghatározása (konvencionális, gél alapú PCR előzi meg)

Konvencionális, gél-alapú PCR

- DNS/RNS kivonás → PCR reakció (örökítőanyag sokszorosítása több ciklusban)
→ PCR termék elektroforézis agar-gélben → Vizualizáció (UV)

(+) Könnyen standardizálható;
Relatív alacsony eszköz/anyag
igény

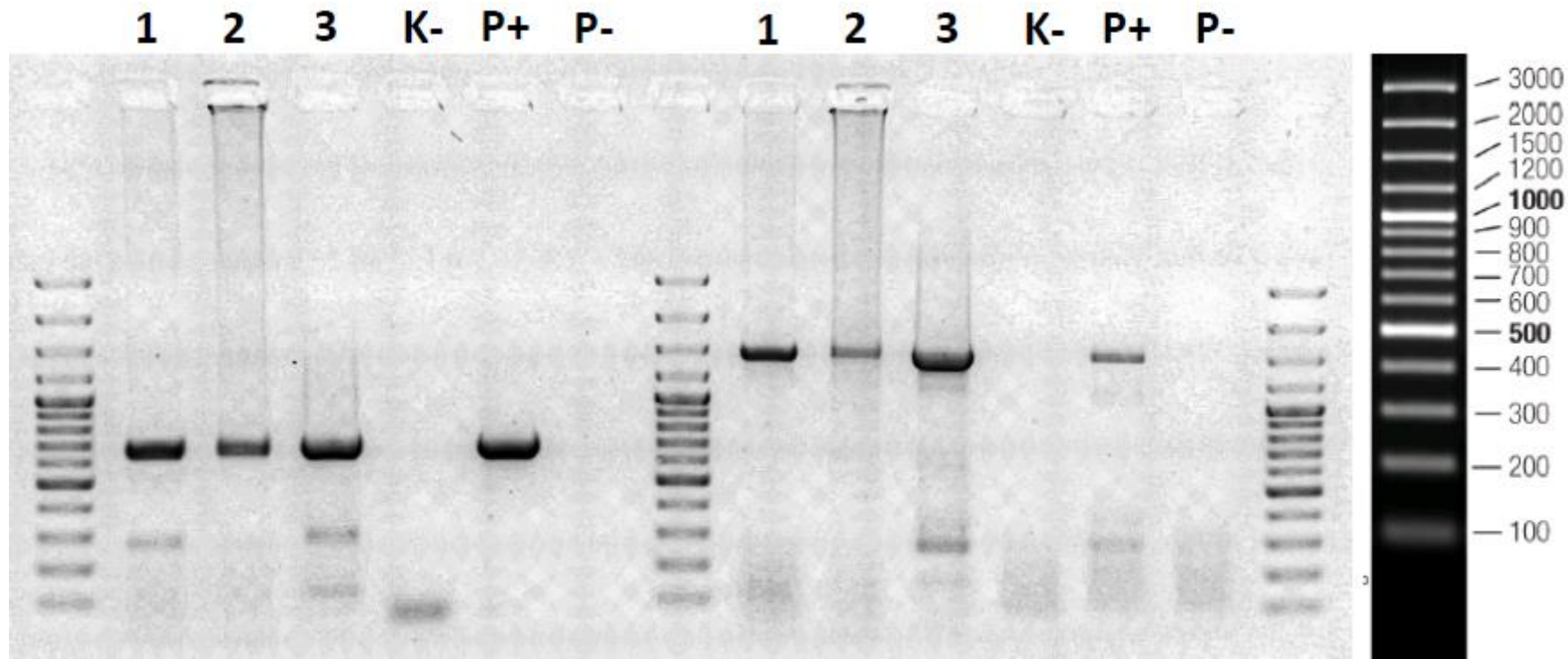


Konvencionális, gél-alapú PCR

(-) Alacsonyabb szenzitivitás (ha csak nem Nested PCR);

Nem zárható ki teljesen az **operátor szubjektivitása**;

Időigényes; magasabb a **keresztkontamináció esélye** (PCR termékes cső felnyitása); **Mintaszám** (max.-14-28/gél vs. qPCR 96-384/futás).



Real-time PCR (qPCR)

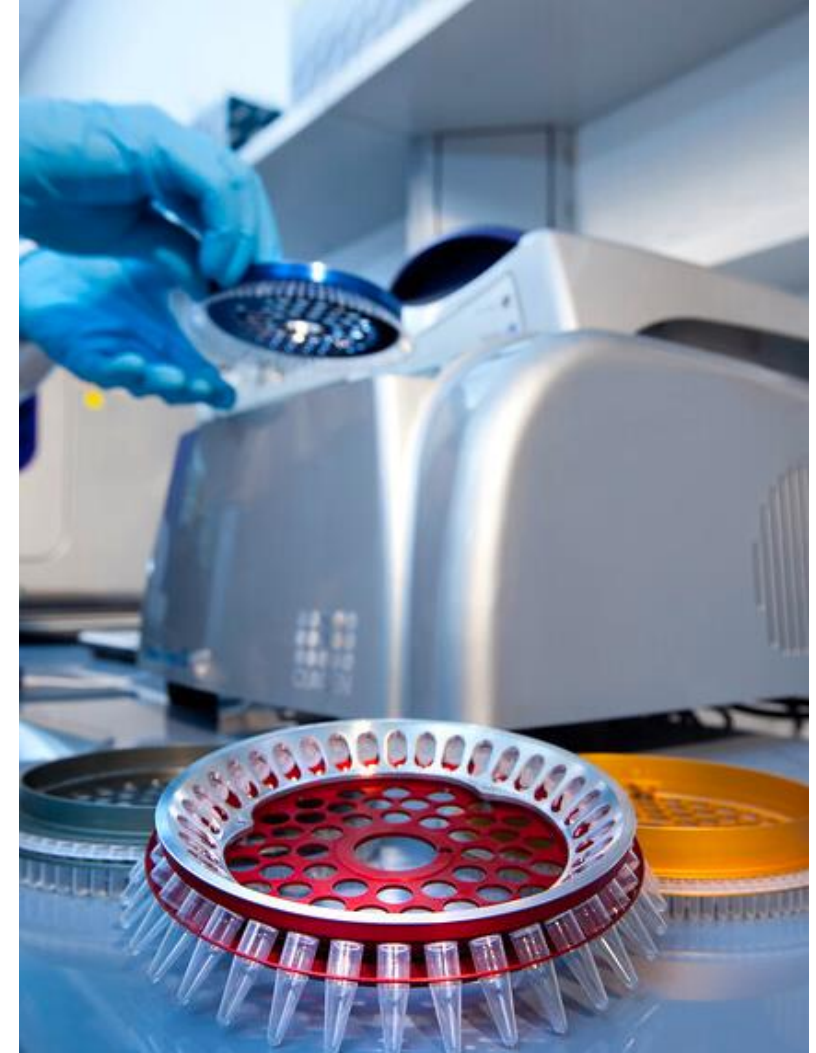
- DNS/RNS kivonás → PCR reakció (örökítőanyag sokszorosítása több ciklusban) → PCR reakció értékelése számítógépes **szoftver** segítségével (Ct érték)

(+) Magas specificitás és szenzitivitás;

Magasan **automatizálható**;

Nagy **áteresztőképesség** (akár több száz minta vizsgálata néhány órán belül);

Az **eredmény (Ct)** korrelálható a mintában található kórokozó mennyiséggel.



MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI MÓDSZEREK

„Detektálhatjuk és mérhetjük a DNS mennyiségét Tutankhamon-ban is, de ez nem azt jelenti, hogy jól van és boldogan szaladgál”

- Legyünk óvatosak amikor a PCR eredményeket próbájuk korreláltatni a fertőzőképességgel!

Korlátok vannak, de lehetőségek is:

- **Klinikai diagnózis felállítása** (+ kórelőzmény, klinikai kép és kórbonctan)
- **Vakcina és vad törzsek gyors megkülönböztetése**
- **Vaksinázás hatékonyságának ellenőrzése**
- **Genetikai háttérű megbetegedések felderítése**
- ...

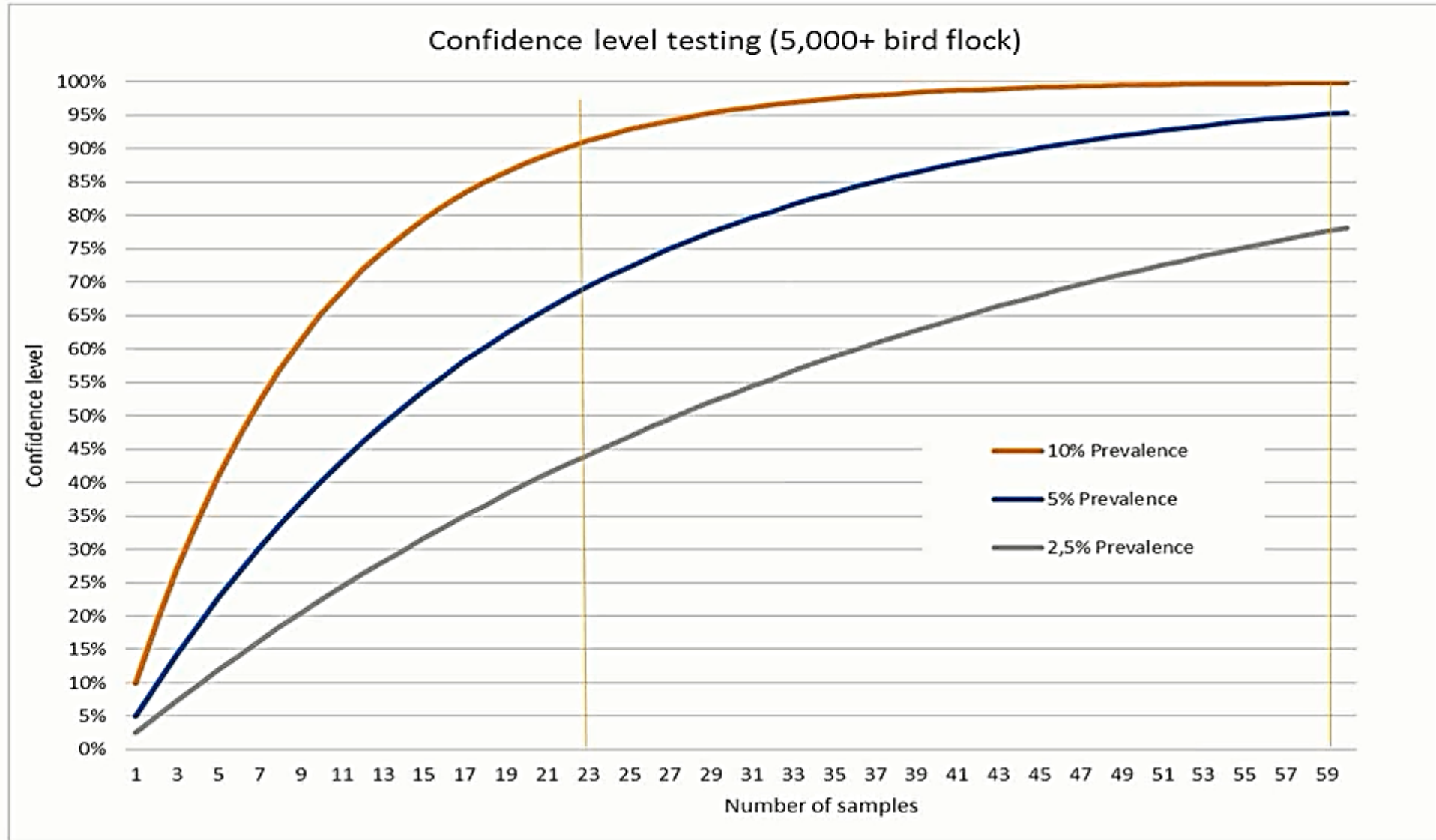
#Correlation is not #Causation



MINTASZÁM???

- **Leginkább attól függ, hogy mennyire szeretnénk biztosak lenni az eredményeinkben?**
 - (anyagi) következmények
 - Hatósági és/vagy megrendelői követelmények
 - Kockázatvállalási hajlandóság (= lehetőség \times következmény)
 - Kórokozó prevalencia
 - Járványkitörés költségei
- **Mintaszám változhat a cél függvényében is...**
 - Mentesség igazolás
 - Vakcinázás hatékonyság ellenőrzés
 - Klinikai diagnosztika

De mégis mennyi az annyi?



De mégis mennyi az annyi?

$$n = \{1 - (1 - \alpha) \times 1/D\} \{N - 0,5 \times (D - 1)\}$$

n = mintaszám; α = szükséges konfidenciaszint; *D* = fertőzött állatok száma; *N* = állomány méret (*D*/*N* = prevalencia)

| Állomány méret | Feltételezett szeroprevalencia %-ban kifejezve | | | | | | | | | | | |
|----------------|--|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|------|
| | 50 | 40 | 30 | 25 | 20 | 15 | 10 | 5 | 2 | 1 | 0,5 | 0,1 |
| 20 | 4 | 6 | 7 | 9 | 10 | 12 | 16 | 19 | 20 | 20 | 20 | 20 |
| 100 | 5 | 6 | 9 | 10 | 13 | 17 | 25 | 45 | 78 | 96 | 100 | 100 |
| 500 | 5 | 6 | 9 | 11 | 14 | 19 | 28 | 56 | 129 | 225 | 349 | 500 |
| 1 000 | 5 | 6 | 9 | 11 | 14 | 19 | 29 | 57 | 138 | 258 | 450 | 950 |
| 5 000 | 5 | 6 | 9 | 11 | 14 | 19 | 29 | 59 | 147 | 290 | 564 | 2253 |
| 10 000 | 5 | 6 | 9 | 11 | 14 | 19 | 29 | 59 | 148 | 294 | 581 | 2588 |
| 100 000 | 5 | 6 | 9 | 11 | 14 | 19 | 29 | 59 | 149 | 299 | 596 | 2995 |

De mégis mennyi az annyi?

ÁLLOMÁNY SZENZITIVITÁS

- Annak a valószínűsége, hogy egy pozitív állományban legalább 1 (vagy több) pozitív eredményt kapunk (nem ugyanaz, mint a teszt szenzitivitás).

$$\hat{A}_{se} = 1 - (1 - p)^n$$

$$n = \text{mintaszám}; p = \text{prevalencia} \times T_{se} + (1 - \text{prevalencia}) \times (1 - T_{sp})$$

pl. prevalencia = 10%; $T_{se} = 90\%$; $T_{sp} = 99\%$; $n = 10$

$$p = 0,10 \times 0,90 + (1 - 0,10) \times (1 - 0,99) = 0,099$$

$$\hat{A}_{se} = 1 - (1 - 0,099)^{10} = 0,65 = \mathbf{65\%}$$

De mégis mennyi az annyi?

ÁLLOMÁNY SZENZITIVÍTÁS

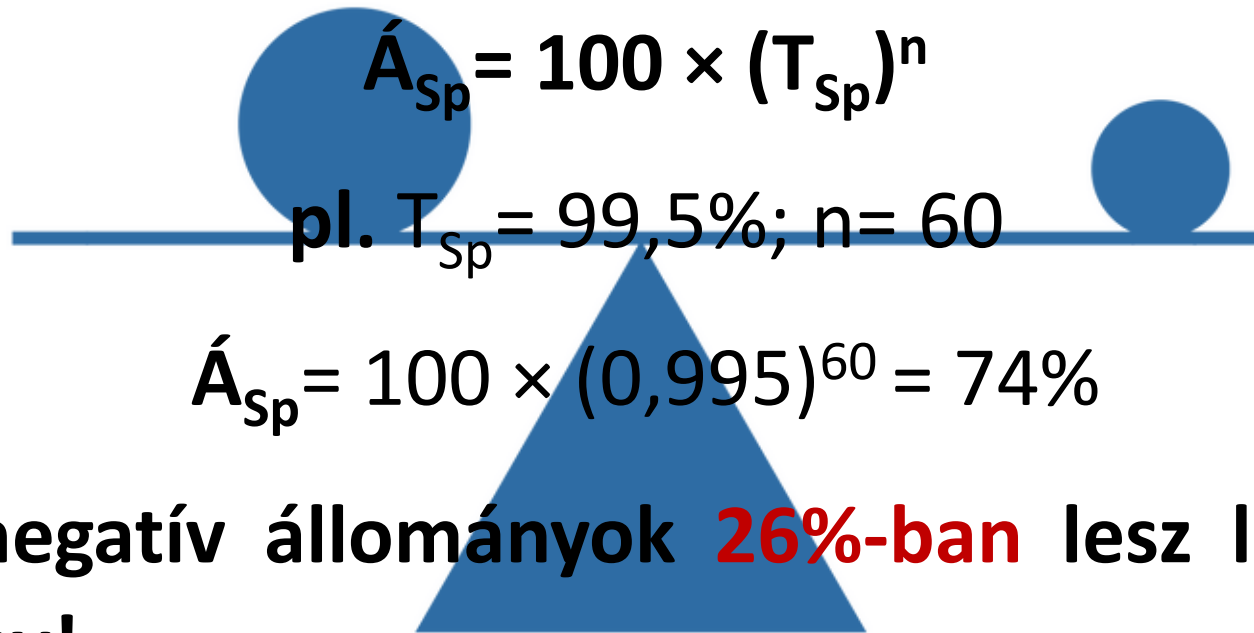
- **Értelmezés: ezen a prevalencia szinten az összes állományból 65%-ban találunk legalább 1 pozitív mintát.**
- **35% esélyünk van arra, hogy a pozitív állományban nem diagnosztizálunk egyetlen egy pozitív esetet sem! Bevállaljuk?**

ÁSe = $1 - (1 - 0,099)^{20} = 0,88 = 88\%$ eséllyel fogunk legalább 1 pozitív mintát → sokkal könnyebben bevállalható

De mégis mennyi az annyi?

ÁLLOMÁNY SPECIFICITÁS

- Annak a valószínűsége, hogy negatív állományok vizsgálatánál csak negatív eredményt kapunk (nem ugyanaz, mint a teszt specificitás).


$$\hat{A}_{Sp} = 100 \times (T_{Sp})^n$$

pl. $T_{Sp} = 99,5\%$; $n = 60$

$$\hat{A}_{Sp} = 100 \times (0,995)^{60} = 74\%$$

Értelmezés: a negatív állományok **26%-ban** lesz legalább egy fals pozitív eredmény!

GYAKORLAT

- Molekuláris biológiai módszerek → lehetővé teszik a **vakcina törzsek differenciálását** a vad törzsektől.
- Alkalmasak a **vakcinázás hatékonyságának ellenőrzésére**. Rengeteg hiba lehetőség rejlik (van) a vakcinázás kivitelezésében, a molekuláris biológiai módszerek kifejlesztéséig kevés lehetőség volt arra, hogy a vakcinázás hatékonyságát egzakt módon vizsgáljuk.
- Ellenőrizhető → **keltetői vakcinázás hatékonysága, rekombináns vakcinák megeredése ...**

GYAKORLAT

- Az, hogy rendelkezésre áll egy módszer még nem garantálja a diagnosztikai sikert → alkalmazott vakcina típus, vakcinázás ideje/módja, **mintavétel ideje/minősége...**
- **pl. IBV keltetői spray vakcinázás** hatékonyságának ellenőrzése → sokszor csak így tudunk meggyőződni a vakcinázás milyenségéről (rengeteg technikai hiba lehetőség).



! Mintavétel időpontja → 3-5 nap a vakcinázás után!!! 2-3 héttel a vakcinázás után már csak azt tudjuk esetleg megállapítani, hogy hogyan terjedt a vakcina vírus az állományban.

GYAKORLAT

- Manapság nem ritka, hogy **egy időben több (2-3) különböző vakcinát alkalmaznak** (keltetői IBV vakcinázás) → ilyenkor megvan az esélye annak, hogy valami nem jól sikerül.
- **pl.** az ún. Protectotype védekezési stratégiát követve **2 IBV vakcinát is adnak a keltetőben** → 4/91 + Massachusetts → **szélesebb védelem**
- **! Viszont, ha nem vizsgáljuk nem tudhatjuk, hogy mindkettő megeredt-e** → vagy csak az egyik → vagy éppen egyik sem → **Hiába várjuk a protectotype védelmet!**
- Mindössze 10 madár mintázásával már egy tisztább képet látunk → 10/10 madárban megeredt a 4/91 és 0/10 madárban sem a Mass vagy pont fordítva.

GYAKORLAT

Fertőző bursitis (Gumboro betegség, IBDV)

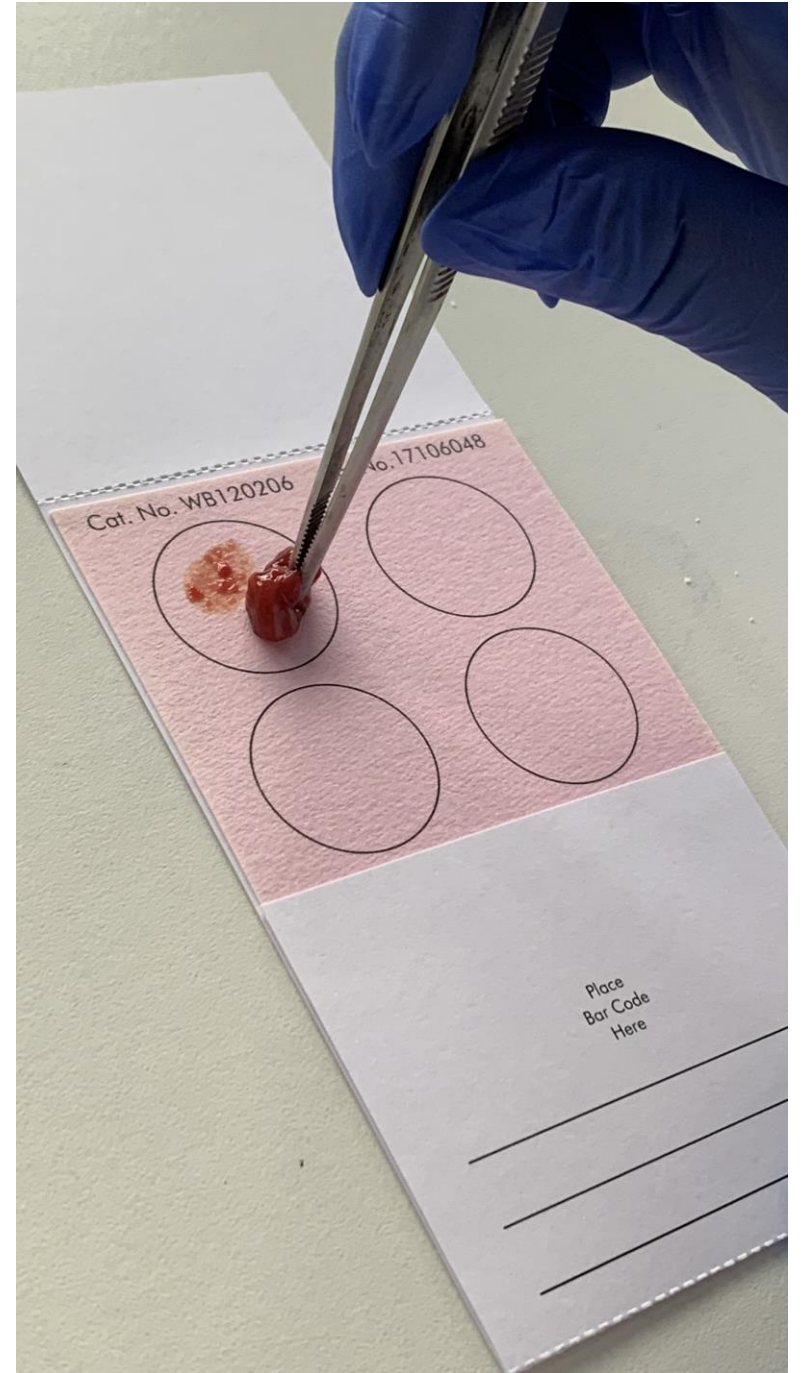
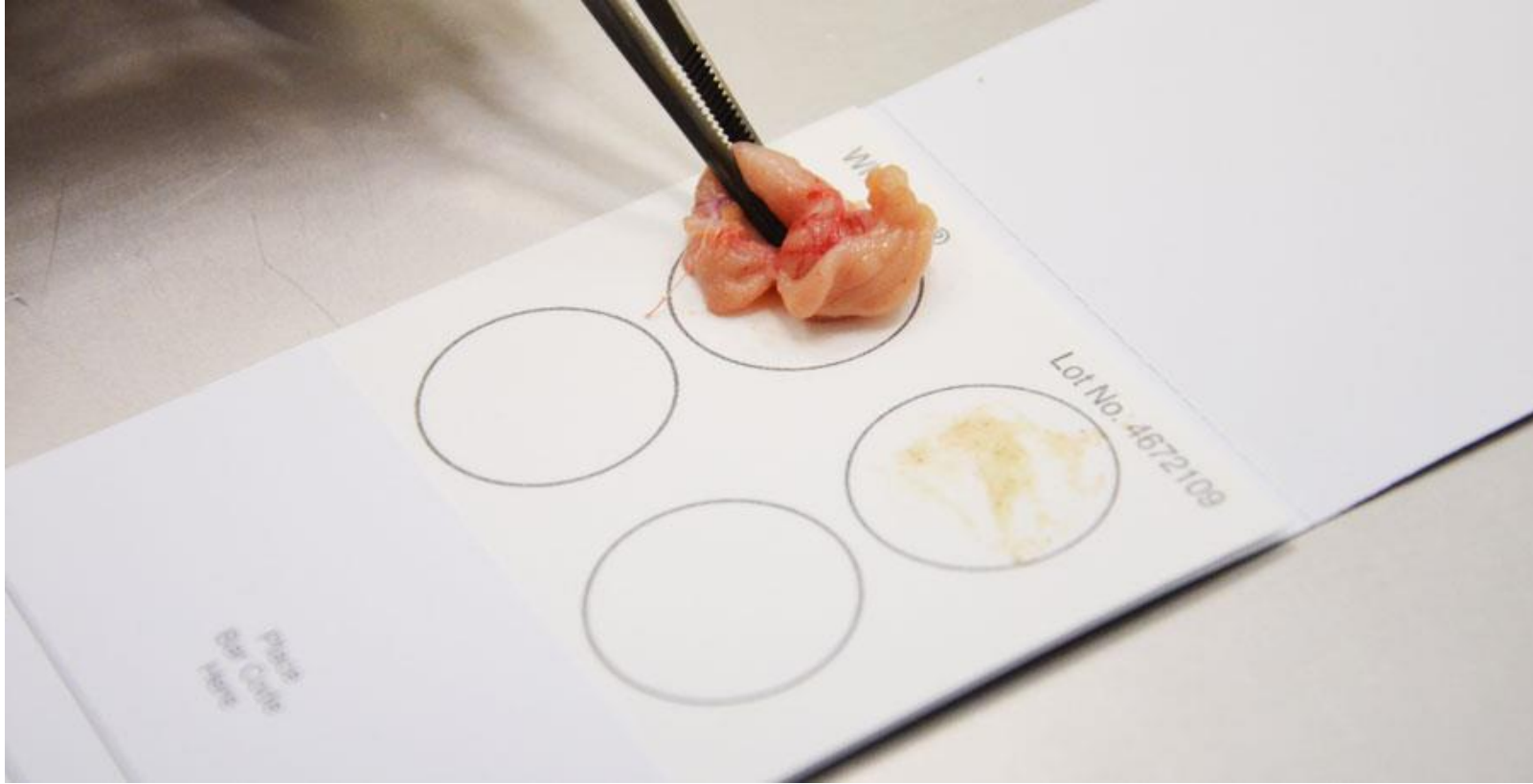
- **Vaksinázás hatékonyságának** ellenőrzése itt is hasonlóan fontos!
- **Variáns törzsek** → már Európában sem ritkaság!



Klinikailag nem jön a tipikus Gumboro → de a termelésre és produktivitásra hatással lesz → a megfelelő időpontban történt mintázással megmondható, hogy a **vakcina megeredt-e vagy sem** (5-10 állat)!

Sokszor, főleg az ***intermediert*** vakcináknál, csak a bursa vizsgálatával nem lehet megmondani, hogy ez egy vakcina vagy egy vad törzs.

GYAKORLAT



GYAKORLAT

FTA KÁRTYA

- Az FTA kártya egy kémiai **vegyületekkel átítatott cellulóz mátrixos papírlap**, amelyet úgy terveztek, hogy a biológia minták sejtjeit **rögzítse**.
- A rögzítés után a sejtek membránjai lebomlanak (**baktérium sejtfa** vagy **vírus capsid**) → a kórokozó örökítő anyaga ezután **szobahőmérsékleten is nagyon hosszú ideig stabil marad**.
- A biológiai mintával inokulált **FTA kártya nem minősül fertőző anyagnak, mivel a kórokozók inaktiválódtak**.
- Az FTA kártyák dokumentumként feladhatók **postai úton**, így nagyban megkönnyítve a minta szállítást.
- A laborban a kártyákból könnyen **kivonható a kórokozó örökítő anyaga**, amely molekuláris biológiai módszerekkel vizsgálható.



Place
Bar Code
Here

2020. 11. 30.

12-ML-2021

GYAKORLAT

Savók mélyhűtése és későbbi vizsgálata?

- Hasznos lehet, **VISZONT nem lehet egy általános szabályt mondani!**

pl. IBV esetében elég egyszerű (még akkor is hogyha semmi információ nem áll rendelkezésre csak annyi, hogy milyen korban történt a vérvétel) **mivel a kapott ELISA titer alapján meg lehet mondani, hogy ez vakcina vagy fertőzési titer.**



Vakcina titerek elég alacsonyak (<1 000 vagy éppen, hogy eléri a pozitivitás határát) viszont ha van **vad vírus cirkuláció** akkor a vágáskori mintákban mindig **magas titert lehet találni** (6 000-8 000 vagy akár >10 000)

GYAKORLAT

Savók mélyhűtése és későbbi vizsgálata?

Madár pneumovírus (aMPV, TRT, SHS) ugyanaz mint az IB-nél → Ha már áthangolódás van, (főleg ha magasak a titer értékek) az már 100% hogy nem vakcina immunitás.



Vakcina **revertálódás** (pneumovírusnál gyakori) vagy **vad vírus** fertőzés által generált magas titer.

GYAKORLAT

Savók mélyhűtése és későbbi vizsgálata?

Gumboro esetében (főleg *intermediar+* vakcinánál) **csak az ellenanyag szint alapján nem lehet megmondani, hogy vakcina titer vagy vad vírus fertőzés generálta titer, mind a kettő ugyanolyan immunválaszt okoz.**

Szerológiának **gyakorlati értéke az a maternális immunitás meghatározásában van.**



Ha nem keltetőben, hanem a telepen történik a vakcinázás hagyományos élő vakcinákkal, **a szikimmunitás figyelembevételével meg lehet napra pontosan határozni a vakcinázás időpontját** (ezzel csökkentve annak lehetőségét, hogy a vad vírus legyen a befutó).

GYAKORLAT (Sertés)

- **Szerológiai vizsgálatoknak (ELISA) jelentősége főleg a mentesség igazolásában van** (*Mycoplasma*, APP, PRRS).
- **Molekuláris biológiai módszerekkel el lehet különíteni a vakcina vírust a vad vírustól** (élő vakcina használata esetén), APP esetében **szerotipizálni lehet** az izolátumot PCR módszerrel, *Mycoplasma* gyanú esetén meg lehet mondani, hogy **csak *M. hypneumoniae* okozza a problémát vagy ott van mellette esetleg a *M. hyorhinis* is ...**
- **! VISZONT, az eredményeket mindig a kliniko-pathológiai, illetve járványtani kontextusban kell értékelni!**

GYAKORLAT

Mycoplasma

- A betegség **szserológiai elemzése bonyolult**, az egyéni immunológiai válaszok variabilitása következtében, tovább bonyolítja a helyzetet a **különböző forgalomba lévő vakcinák és vakcinázási programok sokasága**, illetve a relatív hosszú ideig elhúzódó szerológiai áthangolódás.

1) Vakcinázás hatékonyságának ellenőrzése → vágóhíd!



50-100 tüdő átvizsgálásával, megfelelő pontrendszer szerinti pontozásával, meg tudjuk állapítani, hogy a vakcinázás előtti állapothoz képest javulás történt vagy sem.

GYAKORLAT

Mycoplasma

2) Telepi panaszok: nincs alapvető diagnózis, de vannak légzőszervi tünetek. Nincs különösebb elhullás, de romlanak a termelési paraméterek → **tüdők vizsgálata a vágóhídon** (patológiai elváltozások jelenléte/milyensége + laborvizsgálatok) → a klinikai kép kialakulásában 1 vagy akár több kórokozó is szerepet játszhat (*M. hyo*, PRRS, PCV2, APP, *Streptococcus*...)

- Amikor már **biztosak vagyunk abban, hogy valójában Mycoplasma van** a problémák hátterében, akkor kezdjük **el teljes vertikumban vizsgálni a fertőzés dinamikáját** (előnevelő, hizlalda ...) és majd **csak ezek után lehet vakcinázási programot** vagy egyéb védekezési stratégiát ajánlani.

GYAKORLAT

PCV2

Lehet(ne) mérni immunválaszt, viszont a **gyakorlatban nincs olyan állomány, ahol a háttérben ne lenne ott a vad vírus**, illetve a vad vírus hatására termelt ellenanyagok.



Történelmi perspektívát kaphatunk a vírus cirkulációjáról az állományban/telepen.

- **Kocák/kocasüldők immunstátuszának meghatározása** → a maternális immunitásnak kulcsfontosságú szerepe lehet a malacok PCV2 asszociált betegség kialakulásában (↓ **MDA korrelálható a szérum virémia kimutathatóságával**; a magas kolosztrális PCV2 ellenanyagokkal rendelkező kocák esetében az alom kevésbé fogékony a PCVD-re) **ÉRDEMES VIZSGÁLNI!**

GYAKORLAT

Nem csak az állatokat lehet vizsgálni...

INAKTIVÁLT EDS+ND VAKCINÁZÁS 16,5 HETES KORBAN

| Állatok kora a vizsgálat időpontjában | Vakcinázást végezték: | | | | | |
|---|-------------------------|--|-----------------------|------------------------|--|-----------------------|
| | Állatorvostan hallgatók | | | Profi vakcinázó csapat | | |
| | Átlag EDS HAG titer | <3 EDS titerrel rendelkező madarak száma | Átlag ND HAG titer | Átlag EDS HAG titer | <3 EDS titerrel rendelkező madarak száma | Átlag ND HAG titer |
| 21 hét | 5,8 | 1/24 | 8,9 | 4,0 | 10/24 | 6,3 |
| 26 hét | 6,7 | 0/24 | 9,0 | 4,3 | 11/24 | 5,8 |

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

MARTINA MÁTÉ, Laboratóriumvezető

KEPNER ANETT, Laboratóriumvezető
helyettes/Virológiai egység vezető

SZABADI LUCA, Szerológiai egység vezető

(szakmai- és fotóanyag)



MAREK
LABORATÓRIUM

Dr. PALYA VILMOS, Címzetes Egyetemi Docens

(szakmai mentorálás, lektorálás)

**KÖSZÖNÖM A MEGTISZTELŐ
FIGYELMET!!!**